

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08950

研究課題名(和文) 中枢神経系と全身性発生悪性リンパ腫の分子遺伝子学的比較解析による起源・病態解明

研究課題名(英文) Comparative genetic analysis of central nervous system lymphomas between sites in the central nervous system or extracranial organs

研究代表者

小林 啓一 (Kobayashi, Keiichi)

杏林大学・医学部・学内講師

研究者番号：70406990

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では中枢神経系悪性リンパ腫のドライバー遺伝子異常となりうる遺伝子異常の特定のため、SCNSL 4例、PCNSL全身再発2例でターゲットシーケンスを行い中枢神経病変に特徴的な遺伝子異常について検討を行った。MYD88、CD79B、PIM1遺伝子変異については初発・再発時両者で認められ、早期の遺伝子異常であることが示唆された。中枢神経系再発の検体のみで認められた遺伝子変異として比較的頻度の高い遺伝子が3種類検出され(各75%、50%、50%の割合で変異あり)、中枢神経系におけるドライバー遺伝子異常として機能している可能性が示唆された。今後より多くの症例数での検討と機能解析が望まれる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PCNSL全身性再発、SCNSLに関する遺伝学的解析はその希少性から、特にPCNSL全身性再発、SCNSLの両者を解析し比較検討した報告は少ない。今回複数の遺伝子異常がDLBCLの中枢神経系病変に特徴的であることが示唆されたことはPCNSL、SCNSLの病態解明に寄与するとともに、予後不良であるこれらの疾患における治療標的としての検討につながる社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：In order to search for mutations of central nervous system (CNS) lymphomas which might serve as driver mutations in the CNS, we have performed targeted sequencing in paired samples from four secondary central nervous system lymphoma (SCNSL) cases and two systemic relapse of primary central nervous system (PCNSL) cases. Mutational profiles were compared between the primary and recurrent tumor. MYD88, CD79B and PIM1 mutations were observed as shared mutations in all cases, therefore seemed to be relatively early genetic events. In the SCNSL cases, several de novo mutations were enriched only among the recurrent CNS tumors. One of those mutations were observed in 3/4 (75%) cases, and two mutations were observed in 2/4 (50%) cases. It is suggested that these de novo mutations in the recurrent CNS tumors might serve as driver mutations in the CNS. Further analysis in larger cohorts, and functional studies are required in order to validate these findings.

研究分野：悪性脳腫瘍

キーワード：中枢神経系悪性リンパ腫 二次性中枢神経系悪性リンパ腫 遺伝子変異解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

中枢神経系に原発する悪性リンパ腫 (Primary Central Nervous System Lymphoma, PCNSL) は浸潤性に脳脊髄実質内を増殖する致死性疾患であるが、PCNSL が特に中枢神経系に局限して発生する要因は未だ不明である。近年我々のグループは PCNSL における大規模な遺伝学的解析を行い、体幹部に原発する悪性リンパ腫 (Diffuse Large B cell Lymphoma, DLBCL) と比較しての PCNSL の遺伝学的特徴を明らかにした (Fukumura K, Acta Neuropathol 131:865–875, 2016)。しかし、これらの遺伝学的特徴と特に DLBCL の中枢神経系浸潤との関連については未だ明らかでない。

2. 研究の目的

PCNSL の全身再発、および体幹部の悪性リンパ腫の中枢神経再発 (secondary CNSL; SCNSL) で初発時、再発時のペア検体が得られた症例で両者の遺伝学的プロファイルと比較する事で、特に中枢神経系においてドライバーとなっている遺伝子異常を検索し、これらリンパ腫の主病理型であるびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) における組織親和性に関する新規知見を得ること、また再発予防戦略に対するシーズを探索することを目的とした。

3. 研究の方法

杏林大学医学部附属病院脳神経外科および研究参加施設の PCNSL 全身性再発および SCNSL 症例で初発時の腫瘍検体、および再発時の腫瘍検体の両方が保存されている症例を対象とし、初発時、再発時の腫瘍凍結検体またはパラフィン包埋サンプル、同時期に採取し保存された末梢血凍結検体を用いて、遺伝子変異および DNA メチル化の網羅的解析を行った。遺伝子変異解析としては、過去に国立がん研究センター研究所脳腫瘍連携研究分野で使用実績のある標的シーケンズパネル (Tateishi K, Cancer Res. 2020 October 16) を使用し、Ion torrent multiplex PCR (ThermoFisher) にて行った。メチル化プロファイル、およびコピー数解析にあたっては、過去に国立がん研究センター脳腫瘍連携研究分野で使用実績のある Illumina Infinium Human Methylation 450K BeadChip (450k array) methylation analysis を使用した。

4. 研究成果

杏林大学医学部附属病院、横浜市立大学医学部附属病院で本研究会開始時までに治療を行った SCNSL および PCNSL 体幹部再発例で、初発及び再発時の腫瘍検体が得られた症例に対し、腫瘍由来の DNA を生検検体から抽出し、PCNSL に高頻度あるいは特異的に検出される遺伝子変異を選択的に搭載した解析パネルを用いて、これら腫瘍における遺伝子変異解析、ならびにメチル化アレイを用いたコピー数異常の比較を行った。初発時、再発時両者の臨床検体が得られた 4 症例の SCNSL、2 症例の PCNSL 全身再発で解析を行った。その結果、SCNSL では、MYD88 遺伝子変異 (4/4 症例で陽性)、CD79B 遺伝子変異 (2/4 症例で陽性)、PIM1 遺伝子変異 (4/4 症例で陽性) が初発、再発両者で shared mutation として認められた。また、中枢神経系再発の検体のみで認められた private mutation の中で比較的頻度の高い遺伝子が 3 種類検出された (各 75%、50%、50% の割合で変異あり)。逆に、PCNSL 体幹部再発では、体幹部再発の検体でのみ複数回認められた

private mutation が 1 種類確認さされた(2/2=100%の割合)。Infinium Methylation EPIC kit (Illumina) を用いてメチル化アレイを施行し、その結果から Methylation profiling classifier (DKFZ) www.molecularneuropathology.org を用いてコピー数解析を行ったところ、SCNSL 2 例、PCNSL 体幹部再発 1 例でのみ初発・再発検体の比較データが得られた。中枢神経系再発でのみ A 番染色体および B 番染色体の gain がみられ、PCNSL 体幹部再発の 1 例では逆に、初発中枢神経系病変でみられた A 番染色体および B 番染色体の gain が再発の体幹部病変では認められなかった。以上の結果より、複数の遺伝子変異が中枢神経系病変に特徴的な遺伝子異常である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 永根基雄	4. 巻 73
2. 論文標題 中枢神経系悪性リンパ腫の治療開発 - 多剤併用薬物療法及び新規分子標的治療薬	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 最新医学	6. 最初と最後の頁 1441-1449
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 永根基雄	4. 巻 79
2. 論文標題 中枢神経系原発悪性リンパ腫	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本臨牀	6. 最初と最後の頁 207-212
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 永根基雄	4. 巻 80
2. 論文標題 中枢神経系原発びまん性大細胞型B細胞リンパ腫	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 血液内科	6. 最初と最後の頁 623-635
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Narita Y, Nagane M, Mishima K, Terui Y, Arakawa Y, Yonezawa H, Asai K, Fukuhara N, Sugiyama K, Shinojima N, Kitagawa J, Aoi A, Nishikawa R	4. 巻 23
2. 論文標題 Phase I/II study of tirabrutinib, a second-generation Bruton's tyrosine kinase inhibitor, in relapsed/refractory primary central nervous system lymphoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuro-Oncol	6. 最初と最後の頁 122-133
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/neuonc/noaa145	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tateishi K, Miyake Y, Sasaki N, Mano H, Cahill DP, Wakimoto H, Chi AS, Batchelor TT, Nagane M, Ichimura K, Yamamoto T	4. 巻 80
2. 論文標題 A hyperactive RelA/p65-hexokinase 2 signaling axis drives primary central nervous system lymphoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Res	6. 最初と最後の頁 5330-5343
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-20-2425	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sasaki N, Kobayashi K, Saito K, Shimizu S, Suzuki K, Lee J, Yamagishi Y, Shibahara J, Takayama N, Shiokawa Y, Nagane M	4. 巻 50
2. 論文標題 Consecutive single-institution case series of primary central nervous system lymphoma treated by R-MPV or high-dose methotrexate monotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Jpn J Clin Oncol	6. 最初と最後の頁 999-1008
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyaa073	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Motoo Nagane
2. 発表標題 Therapeutic development for malignant brain tumors: past and future perspectives
3. 学会等名 The 36th Annual Meeting of the Japan Society of Brain Tumor Pathology (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Motoo Nagane
2. 発表標題 Molecular pathogenesis and treatment of primary central nervous system lymphoma: Evidence and perspectives
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Pediatric Neuro-Oncology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nagane M, Fukumura K, Ueno T, Lee J, Shishido-Hara Y, Mishima K, Ichimura K, Mukasa A, Narita Y, Aburatani H, Nishikawa R, Mano H
2. 発表標題 JCOG1114C randomized phase III trial for newly-diagnosed PCNSL comparing HD-MTX + WBRT vs. HD-MTX + WBRT/TMZ followed by adjuvant TMZ
3. 学会等名 2020 International PCNSL Collaborative Group Virtual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Motoo Nagane
2. 発表標題 Update of the ON04059-02 study, tirabrutinib monotherapy for r/rPCNSL in Japan
3. 学会等名 2020 International PCNSL Collaborative Group Virtual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永根基雄、佐々木重嘉、小林啓一、齊藤邦昭、島田大輔、松本淑恵、飯島昌平、山岸夢希、清水早紀、佐々木佑太、塩川芳昭
2. 発表標題 再発中枢神経系原発悪性リンパ腫に対する薬物療法の治療成績と展望
3. 学会等名 第38回日本脳腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Motoo Nagane, Nobuyoshi Sasaki, Keiichi Kobayashi, Kuniaki Saito, Daisuke Shimada, Yoshie Matsumoto, Shohei Iijima, Yuki Yamagishi, Saki Shimizu, Yuta Sasaki, Nobuyuki Takayama, Yoshiaki Shiokawa
2. 発表標題 Combined rituximab, methotrexate, procarbazine, vincristine, and cytarabine (R-MPV-A) treatment for patients with relapsed primary CNS lymphoma
3. 学会等名 25th Annual Meeting of the Society for Neuro-Oncology (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永根基雄
2. 発表標題 中枢神経系原発悪性リンパ腫の病態と治療 エビデンスと今後の展望
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永根基雄、佐々木重嘉、小林啓一、齊藤邦昭、島田大輔、松本淑恵、飯島昌平、山岸夢希、清水早紀、佐々木佑太、塩川芳昭
2. 発表標題 再発中枢神経系原発悪性リンパ腫に対するRMPVA療法の治療成績と展望
3. 学会等名 日本脳神経外科学会 第79回 学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 永根基雄	4. 発行年 2020年
2. 出版社 金芳堂	5. 総ページ数 2770
3. 書名 脳神経外科学II [改訂13版]	

1. 著者名 永根基雄；田村晃，松谷雅生，清水輝夫，辻貞俊，塩川芳昭，成田善孝（編）	4. 発行年 2020年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 395
3. 書名 悪性リンパ腫治療マニュアル（改訂第5版）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	市村 幸一 (Ichimura Koichi) (40231146)	国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・分野長 (82606)	
研究分担者	永根 基雄 (Nagane Motoo) (60327468)	杏林大学・医学部・教授 (32610)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	佐々木 重嘉 (Sasaki Nobuyoshi) (20894504)	杏林大学・医学部・助教(任期制) (32610)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関